

家蝇的卵黄发生及其激素调节*

龚 和 李乾君

(中国科学院动物研究所, 北京 100080)

摘要 用5—15%SDS-PAGE分析表明,家蝇 *Musca domestica* 卵黄蛋白由三个亚基组成,其亚基分子量分别为58KD、50KD、48KD。火箭免疫电泳的结果表明,脂肪体、血淋巴和卵巢内卵黄原蛋白的变化具有密切的相关性,卵黄原蛋白在体内最早出现在羽化后30小时左右,然后迅速增加,在羽化后48小时,脂肪体和血淋巴中卵黄原蛋白含量达到最大值,卵巢开始沉积卵黄蛋白在羽化后30小时,到产卵前达到最大值。脂肪体在离体培养条件下,通过测定³H-亮氨酸掺入卵黄原蛋白的量,对不同发育时期家蝇脂肪体合成卵黄原蛋白的能力及激素的调节作用进行了研究,结果表明,羽化12小时后,合成能力迅速上升,48小时形成高峰,60小时后迅速下跌直至产卵,其合成能力一直维持在低水平,产卵后合成能力又迅速回升。激素处理结果表明,保幼激素可以促进卵黄发生前期和后期家蝇脂肪体的卵黄原蛋白合成,20-羟基蜕皮酮可以大幅度促进卵黄发生期家蝇脂肪体的卵黄原蛋白合成。当二种激素共同处理时,对卵黄发生前期和卵黄发生期的家蝇脂肪体有协同促进作用,而对卵黄发生后期的脂肪体没有这种作用。本文还对家蝇卵黄发生过程中脂肪体、血淋巴和卵巢三者之间的关系及家蝇卵黄发生的激素调节进行了讨论。

关键词 家蝇 卵黄发生 脂肪体 血淋巴 卵巢 保幼激素 20-羟基蜕皮酮

自从 Telfer (1954) 首次发现雌性特异蛋白(卵黄原蛋白、简称 Vg) 以来,研究昆虫的卵黄发生一直是昆虫生殖生理学研究工作中一个核心问题,它具有重要的理论和实践意义,而其中关于激素对于生殖的调控作用及其激素在分子水平的作用机理研究尤为活跃(龚和和翟启慧,1979; Englemann,1979; Hagedorn 和 Kunkel, 1979)

阐明双翅目昆虫的繁殖机理对于昆虫学基础研究和害虫的控制均具有重要意义。双翅目昆虫卵黄发生具有复杂的激素调控方式,在整个昆虫卵黄发生研究中占有重要地位,至今已对22种双翅目昆虫的卵黄发生进行了研究(Kelly, 1987),其中果蝇、蚊虫等卵黄发生的激素调控研究已进入了基因水平。

Adams等(1968)、Adams(1970)、Adams和Fillipi(1988)对家蝇 *Musca domestica* 卵黄发生激素调控进行了多方面研究,最早证明了抑卵激素的存在,并指出它是由成熟卵巢分泌的,其功能为抑制卵的成熟。Adams(1974)通过各种手术和应用外源激素方法证明了保幼激素对滤泡发育和脂肪体变态的调节作用,Adams等(1985)又证明了蜕皮甾类激素对卵黄合成的调节作用以及卵巢是成蝇蜕皮甾类激素的来源器官。上述实验都是在内源激素存在条件下整体水平上进行的,其内环境比较复杂。本实验把体内测定和离体方法相结合,测定不同发育期不同组织中卵黄原蛋白的水平,以说明家蝇生殖周期的卵黄发生规律以及揭示脂肪体、卵巢和血淋巴三者关系,用离体脂肪体培养方法测定脂肪体在成虫不同发育阶段合成卵黄原蛋白能力的动态规律,同时更进一步阐明激素因子对脂肪体合成卵黄原蛋白的调节作用。

本文于1990年3月收到。

* 国家自然科学基金资助项目。

材 料 和 方 法

一、家蝇的饲养和收集

家蝇是由动物研究所昆虫毒理室提供的敏感品系。饲养于 27℃、24 小时光照条件,成虫饲养于纱笼内,并喂以红糖、奶粉和水,幼虫在麦麸:水:奶粉(50:50:1)的混合饲料中饲养,实验家蝇均在羽化后 2 小时内收集,按实验所需分批饲养于罐头瓶中备用。

二、卵黄蛋白的提取和抗体制备

卵黄蛋白按 De Bianchi 等(1985)方法从成熟卵巢提取,并用 5—15%梯度的 SDS-PAGE 进行鉴定,纯品为 3 个亚基组成。以此为抗原,用多点注射法制备免抗血清,抗血清用 50% 硫酸铵饱和度沉淀法纯化,并用雄成虫匀浆液进行吸附,即形成卵黄蛋白特异的抗血清。

三、血淋巴、脂肪体和卵巢样品的制备

各发育阶段的成虫用乙醚麻醉后,在足基部或翅基部用定量毛细管吸取血淋巴,一般 10 头成虫可收集 5 μ l 血淋巴,血淋巴迅速和预冷的 25 μ l 家蝇缓冲液相混 (pH8.0, 0.05 mol/L Tris-HCl, 0.5mol/L NaCl, 1mmol/L PMSF, 5mmol/L NaHSO₃), 低速离心去血细胞后,置于-20℃保存备用。

将取完血淋巴的家蝇在冷生理盐水中解剖取出卵巢 (家蝇生理盐水: pH8.0, 128 mmol/L NaCl, 1.3mmol/L KCl, 134mmol/L 蔗糖, 1.8mmol/L CaCl₂, 2.4mmol/L NaHCO₃), 摘除粘附物质后置于冷的家蝇缓冲液中备用。继续将腹腔内马氏管、消化道等组织摘除,粘附于体壁的脂肪体经生理盐水漂洗后作为脂肪体组织备用。脂肪体和卵巢分别加一定量的家蝇缓冲液匀浆,匀浆液在 10000 转/分离心 5 分钟,取出上清液作为分析用。

四、火箭免疫电泳

一定量的琼脂糖在 Tris-柠檬酸缓冲液中加热熔化 (缓冲液 pH8.8, Tris8.07 克, EDTA-2Na0.37 克,溶于 1000 毫升蒸馏水中,用柠檬酸调 pH 值),最后使琼脂糖浓度为 1%,待冷却至 53℃时加入抗卵黄蛋白血清 (10 μ l 抗血清/每毫升胶液),将 14 毫升胶液铺于稍预热的 9 \times 10cm² 玻片上,冷却后用 3mm 孔径玻璃管打孔,每孔加样品 3 μ l,每块玻片用 10mA 恒流在 4℃电泳 5 小时, Tris-柠檬酸缓冲液作电极液,电泳结束后经漂洗、压干、烘片、染色、脱色等步骤制成保存胶片,根据样品峰高计算出卵黄蛋白含量,用提纯的卵黄蛋白作标准样品。

五、SDS-PAGE 梯度电泳

凝胶梯度为 5—15%,电极缓冲液为 Tris-甘氨酸缓冲液,标准蛋白为美国 Bio-RAD 公司出品的 SDS-PAGE 高分子量蛋白 (分子量 200KD-45KD)。凝胶在 Joyce Loebel Chromoscan 3 电泳扫描仪上扫描。

六、脂肪体的体外培养

将家蝇置于冷的生理盐水中解剖,沿体侧撕开侧膜得到腹部体壁,摘除腹腔中其它器官,使其仅剩下粘附于体壁的脂肪体,经生理盐水漂洗二次后,将体壁漂浮于含有 ³H-亮氨酸(比活 52mci/mmol/L, 上海原子能所生产)的 Grace 培养液中,培养液体积 200 μ l

共培养 5 头家蝇的脂肪体, 培养温度 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 一般培养 4 小时后分别测定其蛋白质合成和释放能力。

七、蛋白质合成量的测定

卵黄原蛋白的测定: 将已制备好的培养液或脂肪体匀浆上清液 $30\mu\text{l}$, 加入 $10\mu\text{g}$ 卵黄蛋白作为载体, 并加入 0.5mol/L Tris-HCl 缓冲液 $30\mu\text{l}$ (pH7.5) 含 10% Triton X-100, 10% 脱氧胆酸钠。样品管加入卵黄蛋白抗血清 $30\mu\text{l}$, 对照加入正常兔血清, 在 30°C 水浴保温一小时后置冰箱沉淀过夜, 然后在 Eppendorf5414 型离心机上离心 5 分钟, 得到沉淀再用 0.1mol/L Tris-HCl 缓冲液悬浮 (pH7.5 含 1% Triton X-100, 0.9% NaCl, 1% 脱氧胆酸钠), 再离心和悬浮, 反复洗 5 次, 然后将沉淀用少量 0.5mol/L NaOH 溶解, 并用 1mol/L HCl 中和, 最后把溶解液放入闪烁杯中, 加入 5ml 闪烁液 (popo 0.06g, ppol.5g, Triton 150ml, 甲苯 300ml), 用 Beckmen LS-9800 液闪仪计数。

总蛋白的测定: 样品中加入载体后即加入 $30\mu\text{l}$ 10% 三氯乙酸, 洗涤液为 5% 三氯乙酸 (含 10mmol/L 亮氨酸), 其余步骤同上。

八、体外培养脂肪体的激素处理

保幼激素 III 号和 20-羟基蜕皮酮均为美国 Sigma 公司产品, 培养液中含 JH III 的浓度为 $62.5\text{ng}/\mu\text{l}$, 含 20-羟基蜕皮酮的浓度为 $50\text{ng}/\mu\text{l}$ 。

九、蛋白质的测定

用 Folin-酚法 (Lowery, 1951) 测定蛋白, 以牛血清蛋白作为标准蛋白。

结 果

一、家蝇卵黄蛋白的亚基组成及其分子量

图 1 所示家蝇雌性特异蛋白 (卵黄蛋白) 只存在卵黄发生期的雌蝇中, 由分子量相近的三个亚基组成, 其亚基分子量分别为 58KD 、 50KD 、 48KD 。亚基组成与 Adams (1983) 报道的相同, 但亚基分子量略大于 Adams 的结果。

二、家蝇在第一个产卵周期中, 脂肪体、血淋巴和卵巢内可溶性总蛋白和卵黄原蛋白的动态变化

脂肪体是昆虫体内蛋白质合成的工厂, 是卵黄原蛋白的主要合成场所。图 2 表示家蝇从羽化到羽化后 96 小时内的脂肪体总蛋白和卵黄原蛋白水平的变化, 刚羽化时脂肪体中可溶性总蛋白的含量高达 $328\mu\text{g}/\text{头}$, 羽化后 24 小时内迅速下跌到 $158.3\mu\text{g}/\text{头}$, 进入卵黄发生期后其可溶性总蛋白的变化和卵黄原蛋白的变化同步, 分别在 48 小时和 96 小时形成高峰。脂肪体中卵黄原蛋白合成主要在羽化后 36—60 小时, 在 48 小时为合成高峰, 其值为 $18\mu\text{g}/\text{头}$ 。

血淋巴是各种血浆蛋白贮存和运转的场所, 图 3 所示, 在羽化后 24 小时, 几乎测不到卵黄蛋白, 羽化后 36 小时血淋巴中卵黄原蛋白浓度已达到 $6.3\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 48 小时达到峰值为 $12.8\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 然后急剧下降到羽化后 72 小时已降到最低值 $1.85\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 说明在卵黄发生后后期脂肪体已停止了卵黄原蛋白的合成, 血淋巴中卵黄原蛋白基本上已全部转移到卵巢中。产卵后血淋巴中卵黄原蛋白浓度迅速形成第二个峰值 ($16\mu\text{g}/\mu\text{l}$)。

图 4 所示, 在羽化后 24 小时内卵巢内测不到卵黄蛋白, 羽化后 30 小时左右才能测

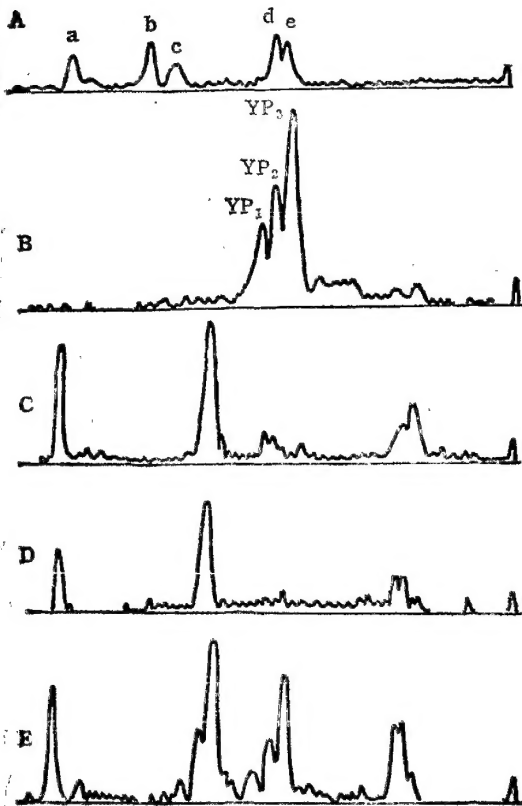


图 1 家蝇血淋巴 SDS-PAGE 扫描图

A. 标准蛋白 B. 部分纯化的卵黄蛋白 C. 未成熟期雌虫血淋巴 D. 雄虫血淋巴 E. 成熟期雌虫血淋巴

a. 肌球蛋白 200KD b. β -半乳糖苷酶 116.25KD
c. 磷酸化酶 8 92.5KD d. 牛血清白蛋白 66.2
KD e. 卵清蛋白 45KD

YP₁、YP₂、YP₃ 为卵黄蛋白三个不同亚基扫描峰

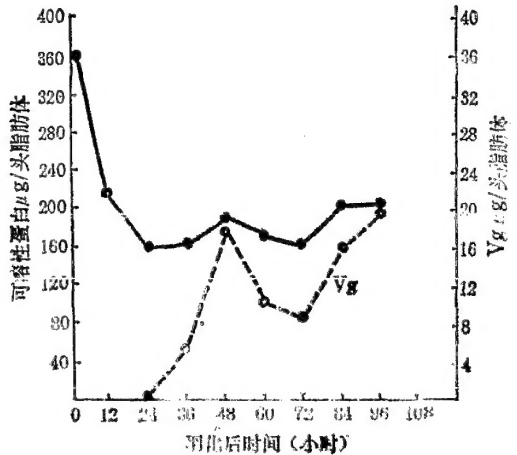


图 2 家蝇卵黄发生过程中脂肪体总可溶性蛋白及卵黄原蛋白 (Vg) 含量的变化

到, 36 小时后总可溶性蛋白和卵黄蛋白的含量急剧上升, 到 72 小时, 即产卵前达到最大值。

三、³H-亮氨酸掺入卵黄原蛋白合成的动力学

用羽化后 48 小时的家蝇脂肪体首先确定了体外培养的温度为 27°C, ³H-亮氨酸最适浓度为 0.25 μ Ci/ μ l。图 5、6 表明脂肪体培养 6 小时内, 释放到培养液中和留在脂肪体内的合成卵黄原蛋白与总蛋白计数变化, 结果显示, 培养 1—2 小时其卵黄原蛋白和总蛋白的合成呈上升趋势, 3—4 小时合成达到最大值, 4 小时培养后脂肪体合成的卵黄原蛋白大量释放到培养液中, 其合成已停止, 5—6 小时培养后培养液中合成蛋白没有明显增加, 可能培养时间太长, 部分蛋白质有被分解的可能。所以其余实验均选择 4 小时作为最适培养时间。

四、羽化后不同时期的家蝇脂肪体合成卵黄原蛋白的能力

图 7 表示家蝇从羽化到羽化后 96 小时, 其脂肪体合成总蛋白和卵黄原蛋白的动态变

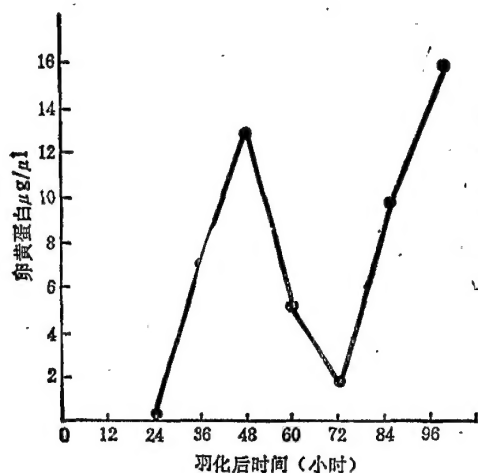


图3 家蝇卵黄发生过程中血淋巴内卵黄原蛋白含量的变化

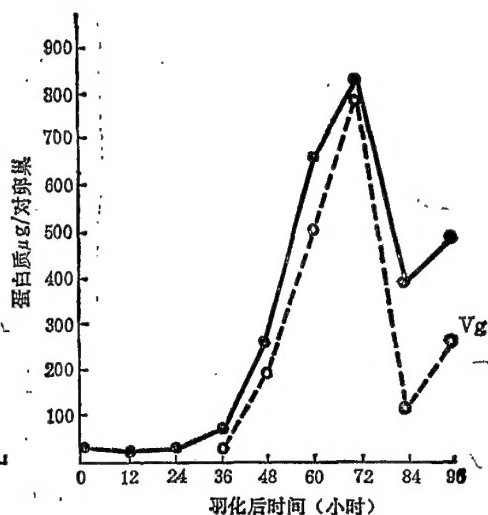


图4 家蝇卵黄发生过程中卵巢内卵黄蛋白和可溶性总蛋白含量的变化

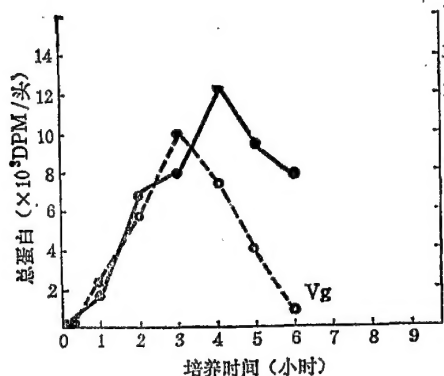


图5 家蝇脂肪体不同培养时间 ^3H -亮氨酸掺入蛋白质合成后释放到培养液中的 Vg 和总蛋白量计数

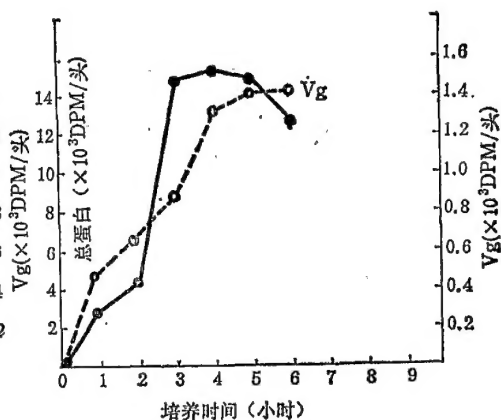


图6 家蝇脂肪体不同培养时间 ^3H -亮氨酸掺入蛋白质合成脂肪体组织中合成 Vg 和总蛋白量计数

化。刚羽化时家蝇脂肪体已有蛋白质合成能力,在羽化后 12—48 小时总蛋白合成形成高峰,而卵黄原蛋白合成在羽化后 36 小时迅速增加,48 小时形成高峰。在 27°C 饲养条件下,根据家蝇脂肪体形态功能变化和卵巢发育分级研究表明,家蝇在羽化 24 小时内,处在卵黄发生前期,脂肪体正处于从蛹型储存功能转变成成虫型合成功能为主,24—60 小时正处于卵黄发生期,脂肪体主要合成卵黄原蛋白,60 小时后到产卵为卵黄发生后期,脂肪体中卵黄原蛋白的合成已基本停止。72—84 小时家蝇开始产卵,这时期脂肪体中总蛋白合成出现一个小峰,但卵黄原蛋白合成极低,这可能与脂肪体从第一生殖周期向第二生殖周期过渡所产生的结构和功能变化有关,84 小时后脂肪体开始形成总蛋白和卵黄原蛋白合成的第二高峰。

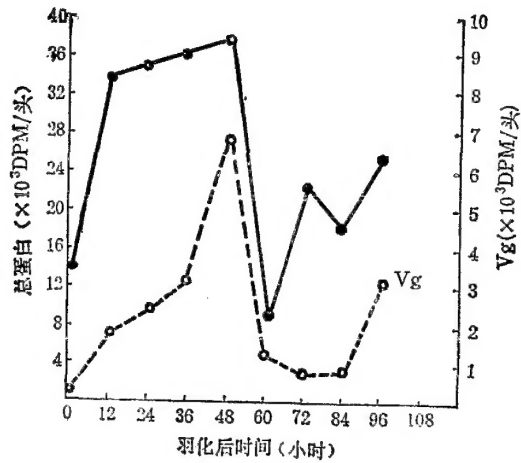


图 7 家蝇羽化后不同时期脂肪体合成卵黄原蛋白及总蛋白量的计数

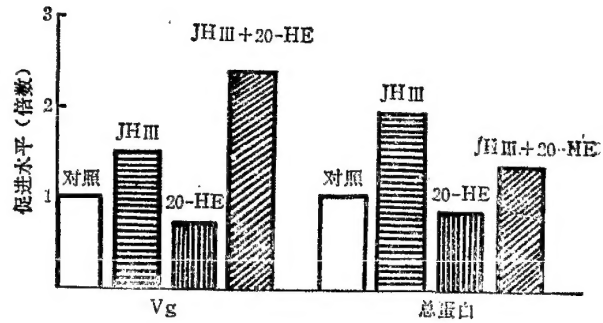


图 8 家蝇羽化后 24 小时 JH III 和 20-羟基蜕皮酮(20-HE)对脂肪体中蛋白质合成的影响

五、激素对脂肪体合成蛋白质的影响

运用脂肪体体外培养并加入外源激素的方法,我们分别选择了卵黄发生前期(羽化后 24 小时)、卵黄发生期(48 小时)及卵黄发生后期(72 小时)的脂肪体来观察其合成蛋白的能力及激素的影响。

图 8 表示,体外培养羽化后 24 小时的脂肪体中加入保幼激素 III 时,对脂肪体合成卵黄原蛋白和总蛋白均有促进作用,其值分别为对照的 1.4 和 1.8 倍,单独加入 20-羟基蜕皮酮没有促进作用,当二种激素共同处理时,具有明显的促进作用,对脂肪体合成卵黄原蛋白的促进尤为显著,其值为对照的 2.4 倍。其结果说明,在卵黄发生前期保幼激素 III 对脂肪体合成卵黄原蛋白有明显的促进作用,当二种激素一起处理时,对卵黄原蛋白合成具有明显的协同增效作用。

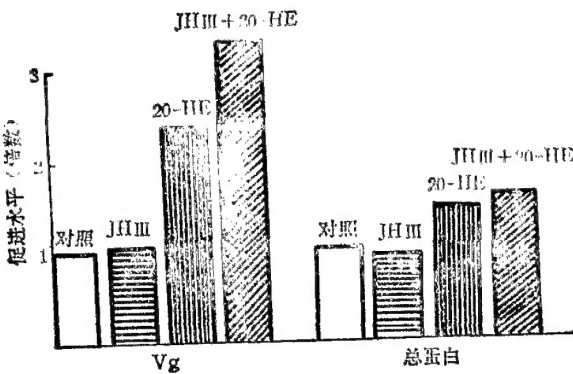


图 9 家蝇羽化后 48 小时 JH III 和 20-羟基蜕皮酮对脂肪体中蛋白质合成的影响

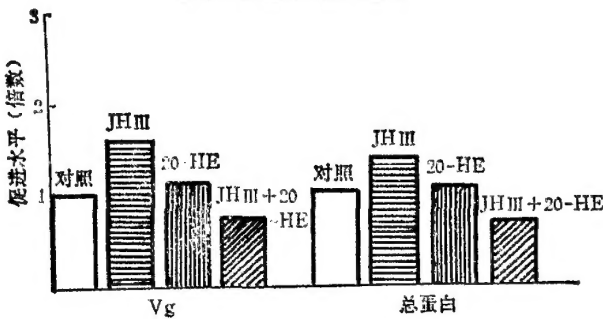


图 10 家蝇羽化后 72 小时 JH III 和 20-羟基蜕皮酮对脂肪体中蛋白质合成的影响

图 9 表示体外培养羽化后 48 小时的脂肪体中加入保幼激素 III 时,卵黄原蛋白和总蛋白的合成均和对照相差不大,而加入 20-羟基蜕皮酮时,卵黄原蛋白和总蛋白合成均显

著增加,其值分别为对照的 2.4 和 1.4 倍,二种激素一起处理时,卵黄原蛋白和总蛋白合成增加更为显著,其值分别为对照的 3.3 和 1.5 倍,结果说明,卵黄发生期的脂肪体合成卵黄原蛋白及其它蛋白主要由 20-羟基蜕皮酮调节的,也表明卵黄发生期脂肪体合成蛋白中卵黄原蛋白占主导地位。

图 10 表示二种激素对羽化后 72 小时脂肪体的效应。单独加入保幼激素 III 时,对卵黄原蛋白和总蛋白合成均有促进作用,其值分别为对照的 1.6 和 1.3 倍。而 20-羟基蜕皮酮无明显作用,当二种激素共用使用时,均表现出一定的阻抑效应。此结果说明在卵黄发生后期,保幼激素对脂肪体的蛋白质合成有一定的调节作用。

讨 论

昆虫卵黄发生及其激素调节的研究主要通过整体和离体二种方法进行 (Hagedorn, 1974; Jowett 和 Postlethwait, 1980; Adams 和 Fillpi, 1988)。二种方法各有其优缺点。本实验把整体分析和脂肪体离体培养方法相结合,说明在卵黄发生过程中,体内卵黄原蛋白水平的变化和离体脂肪体合成卵黄原蛋白的能力是一致的,因而我们可以分析卵黄发生过程中其脂肪体、血淋巴和卵巢组织的相互关系、卵黄原蛋白的动态变化规律。在卵黄发生前期,家蝇脂肪体的形态结构和功能有剧烈的变化,即迅速从储存型蛹型脂肪体转变成具有蛋白质合成功能的成虫脂肪体,保幼激素促进这一转变过程。进入卵黄发生期,脂肪体合成的蛋白质主要是卵黄原蛋白,卵黄原蛋白迅速释放到血淋巴中,血淋巴中卵黄原蛋白的水平是脂肪体合成和分泌卵黄原蛋白以及卵巢摄取卵黄原蛋白二者之间动态变化的结果。在卵黄发生后期,脂肪体合成能力和血淋巴内卵黄原蛋白含量均很低,但卵巢累积卵黄蛋白速度还很高,我们用家蝇卵巢移植实验表明,雄虫体内移植卵巢也有卵黄沉积。因而认为家蝇卵巢也具有卵黄蛋白合成能力,这在双翅目昆虫中已有很多报道 (Brennan 等, 1982; Agui 等, 1985)。

关于双翅目昆虫卵黄原蛋白合成的激素调控研究,已在家蝇、果蝇、伊蚊、麻蝇中开展了大量研究 (Kelly, 1987)。整体研究表明,家蝇在卵黄发生前期去头或切除 CA-CC 复合体(咽侧体、心侧体),抑制卵黄原蛋白出现及滤泡细胞的发育、脂肪体的变态等。我们用离体培养脂肪体方法其结果与整体研究是一致的,在家蝇卵黄发生前期,保幼激素是卵黄发生的主要调节因子,Adams 等和 Hagedorn (1985) 通过对家蝇体内卵黄原蛋白滴度和 20-羟基蜕皮酮的关系研究表明,在卵黄发生时期卵巢是成虫体内蜕皮素合成的主要部位,蜕皮素调控卵黄原蛋白的合成,保幼激素无作用。Agui 等(1985)用保幼激素可以诱导去头雌虫合成卵黄原蛋白,而认为保幼激素的主要作用是刺激卵巢合成蜕皮素,目前有人认为保幼激素不但刺激卵巢产生蜕皮素,同时也可能增加脂肪体中蜕皮素的受体,我们用离体培养脂肪体不但进一步证明了卵黄发生期蜕皮素调控卵黄原蛋白的合成,二种激素一起使用所显示的协同调节作用可能是通过保幼激素调节脂肪体对蜕皮素作用的感受能力。

在卵黄发生后期,是家蝇从第一个产卵周期向第二个产卵周期过渡,第二个周期中其卵黄发生规律和体内激素变化等均还不清楚,虽然在离体条件下二种激素分别对脂肪体合成蛋白质的能力有一定的促进作用,但二种激素共同使用时所产生的抑制效应可能是

激素剂量不适合而产生的副作用。所以应该进一步研究第二个产卵周期的卵黄发生规律及体内激素的变化规律。

参 考 文 献

- 袁和、翟启慧 1979 昆虫卵黄原蛋白和卵黄发生。昆虫学报 22(2):219—36。
- Adams, T. S. et al. 1968 Oostatic hormone production in houseflies, *Musca domestica*, with development. *J. Insect Physiol.* 14: 983—93.
- Adams, T. S. 1970 Ovaries regulation of the corpus allatum in the housefly, *Musca domestica*. *J. Insect Physiol.* 16: 349—60.
- Adams, T. S. 1974 The role of juvenile hormone in housefly ovaries follicular morphogenesis. *J. Insect Physiol.* 20: 263—74.
- Adams, T. S. et al. 1985 Haemolymph ecdysteroid in the housefly, *Musca domestica*, during oogenesis and its relationship with vitellogenin levels. *J. Insect Physiol.* 31(2): 91—7.
- Adams, T. S. & P. A. Fillipi, 1988 Interaction between JH, 20-hydroecdysone, the corpus-allatum complex, and ovaries in regulation vitellogenin levels in the housefly, *Musca domestica*. *J. Insect Physiol.* 34(1): 11—9.
- Agui, N. et al. 1985 The relationship between nutrition, vitellogenin, vitellin and ovarian development in the housefly, *Musca domestica*. *J. Insect Physiol.* 31 (9): 715—22.
- Brennan, M. D. et al. 1982 The follicle cell as a major site of vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Duvl. Biol.*, 89: 225—36.
- De Bianchi, A. G. et al. 1985 Vitellogenin and vitellin of *Musca domestica*. *Insect Biochem.* 15(1): 77—84.
- Engelmann, F. 1979 Insect vitellogenin: identification, biosynthesis and role in vitellogenesis. *Ann Rev Entomol.* 14: 49—108.
- Hagedorn, H. H. 1974 The control of vitellogenesis in mosquito *Aedes aegypti*. *Am Zool.* 14: 1207—17.
- Hagedorn, H. H. & J. G. Kunkel 1979 Vitellogenin and vitellin in insect. *Ann. Rev. Entomol.* 24: 475—505.
- Hagedorn, H. H. 1985 The role of ecdysteroid in reproduction. In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Vol 8: 205—262. Edited by Kerkut, G. A. and Gilbert, L. I. Pergamon Press.
- Jowett, T. & J. H. Postlethwait 1980 The regulation of yolk polypeptide synthesis in *Drosophila* ovaries and fat body by 20-hydroxyecdysone and juvenile hormone analogue. *Devl. Biol.* 80: 225—34.
- Kelly, T. J. 1987 Juvenile hormone and ovarian maturation in the Diptera: A review of recent results. *Insect Biochem.* 17(7): 1089—93.

VITELLOGENESIS AND ITS HORMONAL CONTROL IN THE HOUSEFLY *MUSCA DOMESTICA VICINA*

GONG HE LI QIAN-JUN

(Institute of Zoology, Academia Sinica, Beijing 100080)

Through SDS-PAGE analysis, the yolk protein of *Musca domestica vicina* was found to contain three subunits with molecular weights of 58KD, 50kD and 48KD. The vitellogenin (Vg) and total protein contents of the fat body, hemolymph and ovary of the female flies after emergence were studied and the results showed their close relationship. Generally, Vg appeared in hemolymph at 30 hours after emergence and reached a peak at 48 hours. The Vg content of fat body during vitellogenesis showed a similar pattern of fluctuation. Yolk deposition in the ovary began at 30 hours after emergence, increased sharply in the vitellogenic stage and reached the peak before oviposition. Synthesis of Vg in the fat body and its control by hormones were studied at different stages of the flies by incubation *in vitro* with Grace medium containing ^3H -leucine. The results showed that the rate of Vg synthesis was very low in previtellogenic stage, increased sharply at 12 hours after emergence, rose to maximum at 48 hours and decreased abruptly at 60 hours, keeping in low level in the postvitellogenic stage. After oviposition the capacity for Vg synthesis increased immediately. It was shown that Vg synthesis could be stimulated by adding juvenile hormone III into the incubation medium at the pre- and postvitellogenic stages and by adding 20-hydroxyecdysone to a greater extent at the vitellogenic stage. Vg synthesis could be stimulated by adding both juvenile hormone III and 20-hydroxyecdysone at previtellogenic or vitellogenic stage, but not at postvitellogenic stage. The hormonal regulation of vitellogenesis in the housefly is discussed.

Key words *Musca domestica vicina*—vitellogenesis—fat body—hemolymph—ovary—juvenile hormone III—20-hydroxyecdysone